

# Terapijske mogućnosti primjene melatonina u usnoj šupljini

---

**Jozić, Marica; Hafner, Anita; Jug, Mario**

*Source / Izvornik:* **Farmaceutski glasnik, 2018, 74, 803 - 815**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:381891>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2023-06-06**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



# Terapijske mogućnosti primjene melatonina u usnoj šupljini

MARICA JOZIĆ, ANITA HAFNER, MARIO JUG

Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet,  
Zavod za farmaceutsku tehnologiju, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Hrvatska

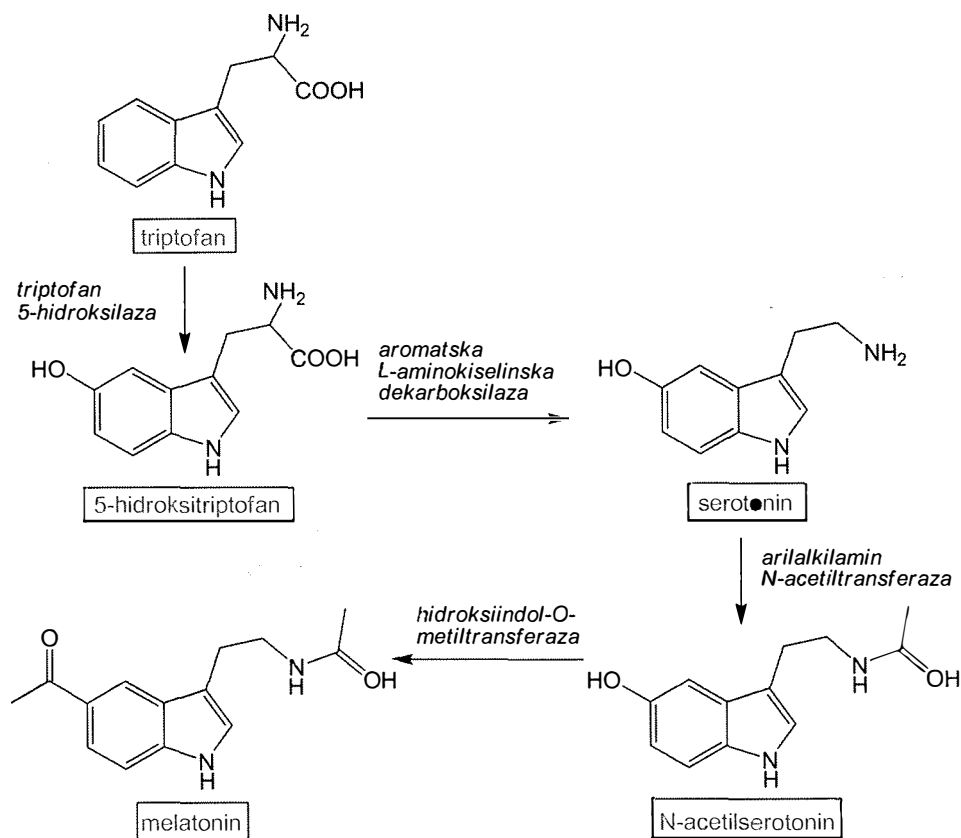
## UVOD

U 17. stoljeću francuski filozof René Descartes smatrao je epifizu ili pinealnu žlijezdu sjedištem duše, dok su joj drugi pridavali važnu ulogu nad nadzorom spolnosti i reprodukcije. Krajem 50-ih godina prošlog stoljeća dokazano je da epifiza luči neurohormon melatonin, koji pokazuje široki spektar fizioloških uloga te je odgovoran za regulaciju i sinkronizaciju cirkadijalnih ritmova, uključujući vrijeme spavanja, regulaciju krvnog tlaka i lučenje spolnih hormona, a vjerojatno utječe na rast i razvoj tumora te starenje (1). Istraživanja pokazuju da manjak melatonina, osim problema sa spavanjem, može izazvati stanja poput starenja kože, debljanja, hipertenzije, dijabetesa tipa 2, kroničnih bolnih stanja, degeneracije žute pjege, glaukoma, neplodnosti, anksioznosti, depresije, migrene, malignih tumora, karijesa, bolesti parodonta i slično (3, 4). Zbog toga se intenzivno proučavaju potencijalni terapijski učinci melatonina, osobito zbog činjenice da kao ambifilna molekula pokazuje dobru topljivost u vodenom i lipofilnom okruženju, te stoga lako prolazi biološke membrane pa je sveprisutan u organizmu (1). Melatonin je gotovo netoksičan, a u isto vrijeme, zahvaljujući svojim mnogobrojnim biološkim učincima, smanjuje toksične učinke drugih lijekova (2, 5).

## Biosinteza melatonina

Melatonin (*N*-acetil-5-metoksitriptamin) glavni je hormon kojeg luči epifiza u cirkadijalnom ritmu. U neznatnim ga količinama luče i crijeva, mrežnica oka, koža, trombociti i koštana srž, a djeluje na različita tkiva i organske sustave. Osim kod ljudi i životinja, prisutan je i kod jednostaničnih eukariota, alga, gljiva te u različitim dijelovima viših biljaka. Sintetizira se iz triptofana preko serotonina (slika 1.) (1). Sintezu melatonina u pinealocitima regulira vezanje

noradrenalina na  $\beta_1$ -adrenergične receptore. Posljedično se aktivira epifizna adenilat-ciklaza i dolazi do porasta razine cikličkog AMP-a i *de novo* sinteze arilalkilamin *N*-acetiltransferaze. Glavni neurotransmitor koji djeluje na epifizu je noradrenalin, koji se oslobađa noću kao odgovor na stimulatorne signale iz suprahijazmatske jezgre, a blokatori  $\alpha_2$  i  $\beta_1$ -adrenoreceptora suprimiraju noćno lučenje melatonina. Reguliranjem učinaka noradrenalina, različiti neurotransmitori uključeni su u kontrolu aktivnosti epifize; vazoaktivni intestinalni peptid, peptid koji aktivira hipofiznu adenilat-ciklazu i opiodi stimuliraju sekreciju melatonina djelovanjem na  $\delta$ -receptore, dok je gama-aminomaslačna kiselina, neuropeptid Y, dopamin i glutamat, inhibiraju. Sintaza melatonina ovisi o dostupnosti triptofana, ali i o statusu folata i vitamina B6 koji može potaknuti sintezu melatonina u djece prije puberteta. Najveća produkcija melatonina odvija se u dobi od 3–6 godina, a zatim se smanjuje za osamdeset posto, tj. dok ne dosegne razinu kod odraslih osoba (2).



Slika 1. Biosinteza melatonina (prilagođeno prema (1)).

Lučenje melatonina iz epifize odvija se noću, pri čemu se maksimalne koncentracije u plazmi (80–150 pg/mL) dosežu između 3:00 i 4:00 h poslije ponoći, dok je koncentracija melatonina tijekom dana niska (10–20 pg/mL). Melatonin se nakon sinteze ne pohranjuje u pinealocitima, nego difuzijom prelazi u cirkulaciju, a nakon toga, zahvaljujući topljivosti i u lipidima i u vodi, prolazi kroz stanične membrane te dopijeva do različitih tekućina, tkiva i stanica; prolazi i krvno-moždanu barijeru te može utjecati na aktivnost mozga. Koncentracija melatonina u cerebrospinalnoj tekućini je 20–30 puta veća nego u krvi, a s udaljenošću od epifize se snižava, što je znak da ga mozak koristi. Melatonin prolazi fetoplacentarnu barijeru te sudjeluje u regulaciji fetalnog biološkog sata, a može prijeći i u majčino mlijeko i tako dospjeti u cirkulaciju novorođenčeta. Profil koncentracije melatonina u plazmi je iznimno reproducibilan kod jedne osobe, dok su unutar populacije prisutne značajne razlike (1, 2).

Metabolizam melatonina primarno se odvija u jetri, gdje se biotransformira više od 90 % cirkulirajućeg melatonina. Prva reakcija je reakcija hidroksilacije katalizirana enzimom citokrom P450 1A2 (CYP1A2). Zbog interindividualnih razlika u aktivnosti tog enzima, treba uzeti u obzir promjene bioraspoloživosti melatonina uslijed interakcija s drugim tvarima koje se preko istog enzima metaboliziraju. Primjerice, kofein značajno povećava bioraspoloživost melatonina, a policiklički aromatski ugljikovodici je smanjuju uslijed indukcije CYP1A2. 6-hidroksimelatonin se dalje metabolizira u 6-sulfatoksimeatonin, koji je glavni metabolit prisutan u urinu. U mozgu se melatonin oksidira u  $N^1$ -acetil- $N^2$ -formil-5-metoksikinuramin, koji ima antioksidativna svojstva jednako kao i melatonin (1, 2).

Ritam lučenja melatonina regulira endogeni sat smješten u suprahijazmatskoj jezgri hipotalamusa, a glavni sinkronizator regulatornog sustava lučenja melatonina je ciklus svjetla i tame. Melatonin se sintetizira tijekom perioda tame, dok u prisutnosti svjetla signali iz retinohipotalamičkog trakta inhibiraju njegovu sintezu. Stvaranje melatonina inhibirano je i djelovanjem umjetnog svjetla tijekom noći; svjetlo intenziteta 2000–2500 luksa pri izloženosti od dva sata (2:00–4:00 h) u potpunosti inhibira sintezu melatonina, dok skromno inhibitorno djelovanje ima svjetlost 50–300 luksa (6). Pri ponovljenoj izloženosti svjetlu tijekom nekoliko noći, lučenje melatonina nadilazi inhibiciju te se odvija s odgodom – ujutro. Promjena lučenja melatonina kao odgovor na sezonske promjene danas nije značajna zahvaljujući suvremenom umjetnom osvjetljenju. Praćenjem muškaraca izloženih prirodnom i umjetnom svjetlu u gradskim sredinama pokazano je da nema razlika u profilima koncentracija melatonina i tireotropina tijekom ljeta i zime (2).

## Biološki učinci melatonina

Budući da lako prolazi membrane i ima široko rasprostranjene receptore, melatonin ima mnogobrojne fiziološke uloge. Putem specifičnih membranskih receptora ostvaruje biološku aktivnost, ulazi u interakcije s nuklearnim receptorima i unutarstaničnim proteinima, poput proteina povezanih s tubulinom ili kalmodulina, a pokazuje i izravni ili pak posredni antioksidativni učinak. Dva su podtipa melatoninskih receptora,  $MT_1$  i  $MT_2$ , a oba su povezana s G proteinom i imaju sedam transmembranskih domena. Aktivacijom ovih receptora moduliraju se unutarstanični putovi prijenosa signala, adenilat-ciklaza, gvanilat-ciklaza, fosfolipaza A2 i C te se mijenja aktivnost kalijevih i kalcijevih kanala. Melatonin je ligand i *orphan* nuklearnih receptora RZR/ROR, preko kojih ostvaruje imunomodulatorni učinak (2). Najbolje istraženi terapijski učinci melatonina povezani su s njegovim utjecajem na cirkadijalni ritam. Opisani su utjecaji melatonina na različita fiziološka i patofiziološka stanja: djeluje na imunosni, probavni i kardiovaskularni sustav. Melatonin smanjuje razinu ukupnog kolesterola i oksidaciju LDL-a, povećava razinu HDL-a, sprječava lipidnu peroksidaciju i stvaranje aterosklerotskog plaka te smanjuje krvni tlak. Nadalje, melatonin regulira izlučivanje hormona i reprodukciju, osteogenezu te percepciju boli, a ispituje se i njegov utjecaj na neurodegenerativne, psihičke i maligne bolesti. Mehanizmi navedenih učinaka detaljno su prikazani u radu Pavić i Zorc (7).

Melatonin je učinkovitiji hvatač slobodnih radikala nego vitamin E, a izravno hvata hidroksilni radikal te kisikove reaktivne spojeve. Naziva se krajnji ili suicidalni antioksidans jer se jednom oksidirani melatonin ne može više reducirati budući da sa slobodnim radikalima stvara stabilne produkte. Nadalje, melatonin povećava razine nekoliko antioksidativnih enzima, kao što su superoksid-dismutaza, glutation-reduktaza i glutation-peroksidaza, a inhibira sintazu dušikova oksida koja je prooksidativni enzim. Čini se kako je povećanje razine glutation-peroksidaze najdosljedniji mehanizam djelovanja melatonina, dok je djelovanje na druge enzime tkivno-specifično ili uvjetovano nekim drugim čimbenicima (8).

## Putevi primjene melatonina

Tradicionalno se melatonin primjenjuje oralno, no zbog opsežnog metabolizma tijekom prvog prolaska kroz jetru, takvom se primjenom ostvaruje niska i varijabilna bioraspoloživost. U Republici Hrvatskoj odobrene su tablete s produljenim oslobađanjem melatonina kao oblik za oralnu primjenu. Bioraspoloživost melatonina iz tog oblika iznosi otprilike 15 % za dozu od 2 mg, uz vrijeme do postizanja vršne koncentracije ( $t_{max}$ ) od 45 min. Uzimanje lijeka uz

hranu odgađa apsorpciju, te rezultira nižim plazmatskim koncentracijama melatonina uz  $t_{\max}$  od 180 min (9). Vrijeme polueliminacije iznosi približno 45 minuta. Podaci na animalnim modelima pokazuju da se nazalnom primjenom melatonina postiže bioraspoloživost u rasponu od 55 do 94 %, ovisno o tipu formulacije, uz  $t_{\max}$  u rasponu od 5 do 8 minuta. Iako su podaci o farmakokinetici melatonina nakon nazalne primjene u ljudi ograničeni, čini se da bi taj način primjene mogao biti prikladan za postizanje brzog usnivanja ili za prilagodbu unutarnjeg sata nakon promjene vremenskih zona (10). (Trans)dermalnom primjenom melatonina ostvaruju se zadovoljavajući lokalni učinci, ali sistemska apsorpcija melatonina je spora zbog njegova odlaganja u kožu (11).

Primjena melatonina putem sluznica usne šupljine rezultira u pravilu većom bioraspoloživošću i  $t_{\max}$  usporedivim s oralnom primjenom. Pri tome važnu ulogu ima tip formulacije i mjesto primjene u usnoj šupljini. Bukalnom primjenom mukoadhezivnih filmova postiže se dvostruko veća bioraspoloživost melatonina nego oralnom primjenom, uz  $t_{\max}$  od 7,9 sati (11). Sublingvalnom primjenom melatonina u obliku spreja postiže se 1,8 puta veća bioraspoloživost i 1,5 puta veća vršna koncentracija nego oralnom primjenom, dok je sublingvalna primjena melatonina u obliku tablete nešto manje učinkovita. Pri sublingvalnoj primjeni melatonina u obliku spreja i tablete  $t_{\max}$  je u rasponu od 37,5 do 42,5 min, a ostvareni profil koncentracija melatonina u krvi dobro oponaša prirodni ciklus lučenja. Zahvaljujući tome na tržištu Europske unije je dostupno nekoliko različitih dodataka prehrani s melatoninom u obliku spreja za sublingvalnu primjenu. No, uočena je velika varijabilnost u sadržaju melatonina u takvim pripravcima u odnosu na deklarirani sadržaj, a također i među proizvodnim šaržama istog produkta (12).

### Fiziološka uloga i terapijski učinci melatonina u usnoj šupljini

Uloge melatonina u usnoj šupljini primarno su povezane s njegovim antioksidativnim i protuupalnim djelovanjem. Melatonin može suprimirati upalu parodonta i zubnog mesa, smanjiti gubitak alveolarne kosti, pridonijeti cijeljenju herpesnih lezija, poboljšati integraciju zubnih implantata, ograničiti razvoj karcinoma usne šupljine te djelovati povoljno kod svih stanja koja su karakterizirana nastankom slobodnih radikala (13). Razina melatonina u slini slijedi cirkadikalni ritam i najviše koncentracije ostvaruju se tijekom noći, a ta je razina niža nego u krvi te iznosi 1–5 pg/mL po danu, odnosno do 50 pg/mL tijekom noći. Smatra se da melatonin u slini potječe iz sistemske cirkulacije tako što pasivno prelazi u mukozne stanice velikih žlijezda slinovnica koje ga oslobađaju uslijed kontrakcije mioepitela, no i same žlijezde slinovnice mogu sintetizirati melatonin iz serotonina. Razina melatonina u slini iznosi otprilike

24–33 % plazmatske koncentracije, no može značajno varirati ovisno o vrsti hrane koja je konzumirana netom prije uzimanja uzorka sline, budući da voće, povrće, žitarice, orašasti plodovi, kava, čaj, vino i pivo također sadrže melatonin (14).

Na mukoznim stanicama oralne šupljine identificirani su  $MT_1$  receptori (15), a pretpostavlja se da pločaste epitelne stanice u usnoj šupljini sadrže ostale receptore. *Lamina propria* gingive i parodonta često sadrži mnogo imunokompetentnih stanica koje same sintetiziraju melatonin, koji tada pokazuje auto-krino, parakrino i intrakrino djelovanje. Budući da je upala važna odrednica zdravlja usne šupljine, oralno raspoloživ melatonin ima ulogu u smanjivanju upale zubnog mesa. Melatonin, zajedno s nekim svojim metabolitima koji nastaju reakcijom sa slobodnim radikalima, visoko je učinkovit u smanjenju oksidativnih oštećenja putem neovisnim o receptorima, nizom reakcija koje se nazivaju melatoninskom antioksidativnom kaskadom. Zahvaljujući antioksidativnim svojstvima, melatonin može biti koristan u liječenju lokalnih upalnih lezija usne šupljine te rana nakon vađenja zuba i kirurških intervencija. Dokazano je da se melatonin veže na aktivno mjesto enzima ciklooksigenaze 2 čime je inhibira. Nadalje, na animalnim modelima je dokazano da melatonin smanjuje incidenciju karijesa, iako nema izravnih dokaza o njegovom antimikrobnom učinku na *Staphylococcus mutans* i *Lactobacillus* vrste, koje su glavne kariogene bakterije u usnoj šupljini (16).

S obzirom na navedene činjenice, moguće je očekivati značajniju primjenu melatonina u suvremenoj stomatologiji, tim više što je dokazano da melatonin smanjuje citotoksičnost i genotoksičnost metakrilatnih monomera koji se danas koriste u izradi kompozitnih ispuna za rekonstrukciju kaviteta koji zaostane nakon uklanjanja karijesa. Naime, iako se metakrilatni monomeri polimeriziraju svjetlom *in situ*, tijekom izrade ispune dio materijala ostaje nepolimeriziran, te se s vremenom oslobađa iz zuba uslijed mehaničkog stresa uzrokovanog žvakanjem ili djelovanjem enzima prisutnih u slini. Nepolimerizirani monomeri penetriraju u pulpu zuba te dalje u sistemsku cirkulaciju, gdje mogu djelovati toksično. U tom smislu, osobito je zanimljivo svojstvo melatonina da značajno smanjuje stupanj oštećenja DNA u fibroblastima nakon izlaganju derivatima metakrilata, te tako poveća biokompatibilnost materijala koji se primjenjuju u izradi kompozitnih ispuna u suvremenoj stomatologiji (13, 16).

Gingivitis i periodontitis su česta upalna stanja mekih tkiva usne šupljine. Lokalnom primjenom melatonina na zahvaćena tkiva, a zahvaljujući njegovom protuupalnom i antioksidativnom djelovanju, moguće je usporiti progresiju

bolesti. Ispitivana je povezanost razine melatonina u slini i jačine upale kod periodontalne bolesti te je pokazano da je jačina periodontitisa veća što je niža razina melatonina u slini (17). Razina melatonina u slini korelira s količinom sline koja se luči te je kserostomija, suhoća usne šupljine, povezana s nižom razinom melatonina i posljedično lošijim periodontalnim statusom. Progresija periodontalne bolesti karakterizirana je pojačanom razgradnjom kolagena, rezultirajući gubitkom vezivnog tkiva. Istraživanjima na ljudskim gingivalnim fibroblastima dokazano je da melatonin utječe na porast razine gena *COL3A1* koji kodira sintezu kolagena tipa III i razine mRNA dekorina (DCN). Dekorin, proteoglikan bogat leucinom je osobito eksprimiran u gingivi te regulira organizaciju kolagenskih vlakana koji čine osnovu ekstracelularnog matriksa zubnog tkiva. Osim toga, razina proteina COL3A1 raste za vrijeme diferencijacije gingivalnih fibroblasta te je povezana s procesom zarastanja rana i nastajanja ožiljaka. Kod gingivitisa i periodontitisa, dolazi do povećanja aktivnosti matriksnih metaloproteinaza (MMP) koje razgrađuju kolagenska vlakana, a u isto vrijeme smanjena je razina dekorina, što rezultira ubrzanim propadanjem ekstracelularnog matriksa. Aktivnost MMP regulirana je tkivnim inhibitorima metaloproteinaza (TIMP), a neravnoteža u razinama MMP i TIMP rezultira fibrinolizom. Dokazano je da melatonin smanjuje omjer MMP1 i TIMP1 mRNA, te tako smanjuje razgradnju ekstracelularnog matriksa posredovanu MMP-ama. Neki podaci ukazuju da melatonin djeluje na aktivnost MMP izravno, vezanjem na aktivno mjesto enzima te putem  $MT_1$  signalnog puta (18).

Proces cijeljenja rana ovisi o sposobnosti fibroblasta da stvore i organiziraju nova kolagenska vlakna i ostale komponente ekstracelularnog matriksa na isti način kao i u zdravom tkivu. Transformirajući čimbenik rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) glavni je regulator sinteze komponentata ekstracelularnog matriksa, koji ima odlučujuću ulogu u procesu cijeljenja rana, aktivirajući ekspresiju gena koji kodiraju sintezu kolagena i ostalih komponentata ekstracelularnog matriksa koje obnavljaju tkivo. No, akumulacija TGF- $\beta$  i endotelina-1 uzrokuje diferencijaciju fibroblasta u miofibroblaste, koji pokazuju visoku aktivnost gena *ACTA2* koji kodira glatkomišićni aktin. Taj proces može rezultirati nastankom ožiljnog (vezivnog) tkiva ili regeneracijom funkcionalnog tkiva. Melatonin u tretiranim humanim gingivalnim fibroblastima smanjuje razine *ACTA2*, *END1* i TGF- $\beta$  mRNA, što upućuje na proces koji je usmjeren na regeneraciju, a ne na nastanak ožiljnog tkiva. Nadalje, melatonin pojačava ekspresiju interleukina 10 (IL-10), protuupalnog i antifibrotičkog citokina, pridonoseći smanjenju upalne reakcije. Time dodatno pridonosi regeneraciji tkiva jer do zarastanja rane bez



nastanka ožiljnog tkiva dolazi kada je upalni proces minimalan (18, 19). Značajna karakteristika periodontitisa je i visoka razina slobodnih radikala koje produciraju u ustima prisutne bakterije te imunosti sustav, a u isto vrijeme se smanjuje antioksidativni kapacitet tkiva. Pokusima na modelu štakora je dokazano da se topikalnom primjenom melatonina značajno smanjuje razina oksidativnog stresa, upalna reakcija te stupanj oštećenja tkiva (16).

U pacijenata s dijabetesom ispitan je utjecaj melatonina na supresiju periodontalne bolesti. Prije primjene melatonina dijabetičari su imali značajno povećane razine alkalne i kisele fosfataze u slini, kao i osteopontina i osteokalcina, u usporedbi s osobama koje nisu imale šećernu bolest. Topikalnom primjenom gela s melatoninom (1 %) postignuto je smanjenje dubine parodontnog džepa i gingivalnog indeksa, a u isto vrijeme i smanjenje koncentracija alkalne i kisele fosfataze te osteopontina i osteokalcina u slini. Melatonin smanjuje aktivnost osteoklasta i promovira zdravlje alveolarne kosti, te bi mogao biti sredstvo za očuvanje zdravlja parodonta (18, 20).

Primjena melatonina kao promotora oseointegracije zubnih implantata potvrđena je u nizu studija na animalnim modelima, pri čemu se melatonin primjenjivao sam ili u kombinaciji s hormonom rasta te fibroblastnim faktorom rasta (FBF-2). Studije su pokazale značajno bolji kontakt kosti i implantata, veću gustoću kostiju, kao i proliferaciju osteoblasta u području implantata, a utjecaj melatonina je osobito izražen u ranim fazama cijeljenja kostiju nakon implantacije (19). Smatra se da je navedeni učinak posljedica protuupalnog i antioksidativnog učinka melatonina.

Melatonin bi mogao ublažiti simptome nekih virusnih infekcija usne šupljine, koje se često pogoršavaju uslijed oslabljenog imunostnog sustava i molekularnih oštećenja koja nastaju kao posljedica djelovanja slobodnih radikala. Melatonin stimulira odgovor, kako urođene, tako i stečene imunosti, i uz hvatanje radikala, pridonosi suzbijanju virusne infekcije bez izravnog antivirusnog učinka. Smatra se da je protektivni učinak melatonina povezan s njegovom sposobnošću da poveća produkciju interleukina 1 $\beta$ , koji je važan čimbenik u funkciji imunostnog sustava jer pojačava aktivnost makrofaga/monocita, limfocita T i B, NK stanica i limfocitima aktiviranih stanica ubojica. Za sada se mogućnost primjene melatonina u liječenju virusnih bolesti usne šupljine, samog ili u kombinaciji s drugim lijekovima, intenzivno proučava, te je opažen povoljan utjecaj melatonina na cijeljenje lezija uzrokovanih *Herpes simplex* virusom, a učinkovitost je bila usporediva s aciklovirom, uz manju učestalost nuspojava (21).

Oralni lihen planus (OLP) kronična je upalna bolest sluznice usne šupljine koja uzrokuje oštećenja i ulceracije usne šupljine, a karakterizira je degeneracija bazalnih keratinocita, narušavanje epitelne bazalne membrane i subepitelna infiltracija T-limfocita. U pacijenata s OLP-om u oralnoj su mukozi utvrđene povećane razine melatonina, arilalkilamin *N*-acetiltransferaze (AA-NAT) i  $MT_1$ , što može odražavati citoprotektivnu ulogu melatonina uslijed njegova antioksidativnog i protuupalnog djelovanja te zaštite epitelnih stanica od apoptoze. Stvaranje melatonina u infiltriranim imunskim stanicama u oralnoj mukozi može djelovati imunomodulatorno pojačavanjem fagocitoze i smanjenjem upalnog odgovora. Kronična upala može inducirati sintezu melatonina preko AA-NAT i pojačati njegovo djelovanje putem  $MT_1$  receptora u upalom zahvaćenoj oralnoj mukozi pacijenata koji boluju od OLP-a. Te promjene mogu utjecati na permeabilnost oralnih epitelnih stanica i stanični integritet, te time rezultirati različitim manifestacijama OLP-a (22, 23).

Posebno je zanimljiva uloga melatonina u prevenciji karcinoma usne šupljine. Iako točan mehanizam djelovanja nije još u potpunosti razjašnjen, smatra se da je taj učinak prvenstveno povezan sa sposobnosti melatonina da neutralizira slobodne radikale te da potakne sintezu reduciranog oblika glutaciona koji je glavni stanični antioksidans. Na taj način melatonin sprječava oštećenje genetskog materijala i nastanak karcinoma. Također, melatonin blokira nastajanje endotelina-1, glavnog čimbenika koji stimulira angiogenezu u primarnim tumorima (24). U isto vrijeme opaženo je da melatonin inducira apoptozu tumorskih stanica te stimulira imunski sustav na njihovo učinkovitije uklanjanje. Navedeni mehanizmi su dokazani *in vitro*, na staničnim modelima, dok su podaci o antitumorskom djelovanju melatonina iz kliničkih studija kontradiktorni. U nekim slučajevima je pokazano da melatonin nema učinka, dok drugi rezultati pokazuju da se istovremenom primjenom citostatika i melatonina postiže smanjenje intenziteta nuspojava te poboljšanje kvalitete života uz dulje preživljavanje (25). Navedeni podaci ukazuju na potencijal primjene melatonina u prevenciji i uspješnijem liječenju karcinoma usne šupljine, no on se još mora detaljnije istražiti i potvrditi u kliničkim ispitivanjima.

### Novi farmaceutski oblici za primjenu melatonina u usnoj šupljini

Do sada se nije pridavao veliki značaj razvoju novih farmaceutskih oblika za lokalnu primjenu melatonina u usnoj šupljini. U različitim ispitivanjima najčešće je korištena otopina melatonina u fiziološkoj otopini, koja se nanosila na tkiva ili su se njome impregnirali zubni implantati (26). Nadalje, opisano je

svoga nekoliko formulacija za sistemsku primjenu melatonina putem sluznica usne šupljine. Fleksibilni mukoadhezivni bukalni filmovi oblikovani korištenjem poliizobutilena i Carbopola 943P, sadržavali su 0,5 mg melatonina u filmu površine 0,5 cm<sup>2</sup>. Kao što je već ranije navedeno, bukalnom primjenom takvih filmova u zdravih dobrovoljaca postignuta je dva puta veća bioraspoloživost nego oralnom primjenom, uz  $t_{\max}$  od 7,9 sati (8). S ciljem dodatnog poboljšanja sublingvalne bioraspoloživosti melatonina, razvijena je nanoemulzija primjenom kombinacije askorbilpalmitata i polisorbata 80 kao tenzida. Pripremljena nanoemulzija sadržavala je dozu melatonina od 0,5 % te je pokazala izrazitu fizikalno-kemijsku stabilnost tijekom ispitivanja (27). Flo i suradnici uklopili su melatonin u različite podloge te ispitivali reološka svojstva pripravka, *in vitro* brzinu oslobađanja lijeka, kemijsku stabilnost te utjecaj podloge na permeabilnost melatonina kroz svinjsku bukalnu mukozu (28). Melatonin je uklopljen u gel natrijeve karboksimetilceluloze (4 %, *m/V*), gel karbopola (1 %, *m/V*), u komercijalno dostupnu adhezivnu pastu (Orabaze<sup>®</sup>), gel na bazi poloksamera 407 (20 %, *m/V*) te poloksamersko-lecitinski organogel koji je sadržavao 10 % (*m/V*) lecitina te 10 % (*m/V*) izopropilpalmitata kao uljnu fazu te gel poloksamera 407 (20 %, *m/V*) kao vodenu fazu. Konačna masena koncentracija melatonina u navedenim formulacijama iznosila je 1 %. Svi sustavi pokazivali su pseudoplastično ponašanje te pH u rasponu od 6,25 do 6,78, što je poželjno za pripravke koji se nanose na sluznicu. Vrsta podloge značajno je utjecala na brzinu oslobađanja melatonina *in vitro* kao i na njegovu permeabilnost kroz bukalnu sluznicu svinje. Izbor podloge određuje i fotostabilnost melatonina, pa je tako njegova razgradnja najizraženija u komercijalnoj podlozi (Orabaze<sup>®</sup>). Temeljem ostvarenih rezultata autori predlažu gel natrijeve karboksimetilceluloze kao najprikladniju formulaciju za sistemsku primjenu melatonina, dok poloksamersko-lecitinski organogel ističu kao oblik najprikladniji za ostvarivanje lokalnog učinka melatonina u usnoj šupljini jer osigurava njegovu akumulaciju u tkivu sluznice (28).

## ZAKLJUČAK

Melatonin, osim fizioloških, pokazuje široki spektar potencijalno terapijskih učinaka. Iako točni mehanizmi djelovanja melatonina nisu u potpunosti razjašnjeni, lokalnom primjenom melatonina u usnoj šupljini mogu se ostvariti preventivni i/ili terapijski učinci u liječenju bolesti parodonta, poboljšati oseointegracija zubnih implantata, prevenirati karijes, pospješiti cijeljenje različitih lezija i rana nakon ekstrakcije zuba, a postoje indikacije o mogućem

antitumorskom učinku. Nadalje, sluznice usne šupljine su povoljno mjesto za sistemsku primjenu melatonina. No, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se ostvarilo bolje razumijevanje fizioloških i potencijalno terapijskih učinaka melatonina. U isto vrijeme, potrebno je razviti nove i učinkovite terapijske sustave koji bi omogućili osiguravanje terapijski relevantnih koncentracija melatonina u usnoj šupljini kao i reproducibilnu sistemsku apsorpciju.

## **Therapeutic potential of melatonin application in the oral cavity**

M. Jozić, A. Hafner, M. Jug

### ***A b s t r a c t***

Melatonin is a methoxyindole synthesized and secreted principally by the pineal gland in a circadian fashion. It is also synthesized in other organs, in which exerts local effects. Melatonin is primarily involved in the regulation of circadian rhythms, but it has a wide functional activities, affecting almost all tissues and organs. Moreover, multiple molecular targets of melatonin have been identified, and its actions are both receptor-mediated and receptor-independent with potent antioxidant activity. Nowadays it is mainly used as a dietary supplement for sleep regulation and re-synchronization of disrupted circadian rhythms. Melatonin has very low toxicity, but its limited oral bioavailability and short half-life are affecting its tissue availability negatively. Since melatonin receptors display a very wide distribution in the body, putative therapeutic indications of this compound are multiple. This article is focused on the potential therapeutic implications of melatonin in the oral cavity. Melatonin has immunomodulatory and antioxidant activities, stimulates the proliferation of collagen and osseous tissue, and protects against inflammatory processes and cellular damage caused by the reactive oxygen species. As a result of these actions, melatonin may be used therapeutically in the oral cavity to treat gingivitis and periodontitis, prevent caries, reduce potential toxic effects of materials used in dentistry, accelerate healing of postsurgical wounds caused by tooth extractions and other oral surgeries, promote osseointegration of dental implants and may also impede the progression of oral cancer. Specific studies aimed to develop new and more efficient topical delivery systems are necessary to extend the therapeutic possibilities of melatonin to treat oral diseases.

1. Carpentieri A, Diaz De Barboza G, Areco V, Peralta Lopez M, Tolosa De Talamoni N. New perspectives in melatonin uses. *Pharmacol Res.* 2012; 65(4):437–444.
2. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie.* 2015; 61(2–3):77–84.
3. Hardeland R. Melatonin in aging and disease: multiple consequences of reduced secretion, options and limits of treatment. *Aging Dis.* 2012; 3(2):194–225.
4. Singh M, Jadhav HR. Melatonin: functions and ligands. *Drug Discov Today* 2014; 19(9):1410–1418.
5. Reiter RJ, Tan D-X, Sainz RM, Mayo JC, Lopez-Burillo S. Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J Pharm Pharmacol.* 2002; 54: 1299–1321.
6. Bojkowski CJ, Aldhous ME, English J, Franey C, Poulton AL, Skene DJ, Arendt J. Suppression of nocturnal plasma melatonin and 6-sulphatoxymelatonin by bright and dim light in man. *Horm Metab Res.* 1987; 19(9):437–440.
7. Pavić K, Zorc B. Melatonin. *Farm Glas.* 2013; 69(4):249–265.
8. Rivara S, Pala D, Bedini A, Spadoni G. Therapeutic uses of melatonin and melatonin derivatives: a patent review (2012 – 2014). *Expert Opin Ther Pat.* 2015; 25(4):425–441.
9. European Medicines Agency – Find medicine – Circadin [Internet]. [cited 2018 Jun 14]. Available from: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000695/human\\_med\\_000701.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000695/human_med_000701.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)
10. Zetner D, Andersen LPH, Rosenberg J. Pharmacokinetics of Alternative Administration Routes of Melatonin: A Systematic Review. *Drug Res.* 2016; 66(4):169–73.
11. Bénès L, Claustrat B, Horrière F, Geoffriau M, Konsil J, Parrott KA, DeGrande G, McQuinn RL, Ayres JW. Transmucosal, oral controlled-release, and transdermal drug administration in human subjects: A crossover study with melatonin. *J Pharm Sci.* 1997; 86(10):1115–9.
12. Erland LAE, Saxena PK. Melatonin Natural Health Products and Supplements: Presence of serotonin and significant variability of melatonin content. *J Clin Sleep Med.* 2017; 13(2):275–81.
13. Reiter RJ, Rosales-Corral SA, Liu XY, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX. Melatonin in the oral cavity: Physiological and pathological implications. *J Periodontal Res.* 2015; 50(1):9–17.
14. Arnao MB, Hernández-Ruiz J. Phytemelatonin, natural melatonin from plants as a novel dietary supplement: Sources, activities and world market. *J Funct Foods.* 2018; 48:37–42.
15. Shimozuma M, Tokuyama R, Tatehara S, Umeki H, Ide S, Mishima K, Saito I, Satomura K. Expression and cellular localization of melatonin-synthesizing enzymes in rat and human salivary glands. *Histochem Cell Biol.* 2011; 135(4): 389–96.
16. Najeeb S, Khurshid Z, Zohaib S, Zafar MS. Therapeutic potential of melatonin in oral medicine and periodontology. *Kaohsiung J Med Sci.* 2016; 32(8):391–6.

17. Cutando A, Galindo P, Gómez-Moreno G, Arana C, Bolaños J, Acuña-Castroviejo D, Wang HL. Relationship Between Salivary Melatonin and Severity of Periodontal Disease. *J Periodontol.* 2006; 77(9):1533–8.
18. Cutando A, López-Valverde A, de Diego RG, de Vicente J, Reiter R, Herrero Fernández M, et al. Effect of topical application of melatonin to the gingiva on salivary osteoprotegerin, RANKL and melatonin levels in patients with diabetes and periodontal disease. *Odontology.* 2014; 102(2):290–6.
19. Permuy M, López-Peña M, González-Cantalapiedra A, Muñoz F. Melatonin: A review of its potential functions and effects on dental diseases. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(4):1–13.
20. Cutando A, López-Valverde A, Gómez-de-Diego R, Arias-Santiago S, de Vicente-Jiménez J. Effect of gingival application of melatonin on alkaline and acid phosphatase, osteopontin and osteocalcin in patients with diabetes and periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013; 18(4):657–63.
21. Cengiz MI, Cengiz S, Wang HL. Melatonin and oral cavity. *Int J Dent.* 2012; Article ID(491872).
22. Luengtrakoon K, Wannakasemsuk W, Vichitrananda V, Klanrit P, Hormdee D, Noisombut R, Chaiyarit P. Increased melatonin in oral mucosal tissue of oral lichen planus (OLP) patients: A possible link between melatonin and its role in oral mucosal inflammation. *Arch Oral Biol.* 2017; 78:13–9.
23. Chaiyarit P, Luengtrakoon K, Wannakasemsuk W, Vichitrananda V, Klanrit P, Hormdee D, Noisombut R. Biological functions of melatonin in relation to pathogenesis of oral lichen planus. *Med Hypotheses.* 2017; 104:40–4.
24. Goradel NH, Asghari MH, Moloudizargari M, Negahdari B, Haghi-Aminjan H, Abdollahi M. Melatonin as an angiogenesis inhibitor to combat cancer: Mechanistic evidence. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017; 335:56–63.
25. Mehta A, Kaur G. Potential role of melatonin in prevention and treatment of oral carcinoma. *Indian J Dent.* 2014; 5(2):86.
26. Salomó-Coll O, de Maté-Sánchez JEV, Ramírez-Fernandez MP, Hernández-Alfaro F, Gargallo-Albiol J, Calvo-Guirado JL. Osseoinductive elements around immediate implants for better osteointegration: A pilot study in foxhound dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2016; 1–9.
27. Fratter A, Semenzato A. New association of surfactants for the production of food and cosmetic nanoemulsions: Preliminary development and characterization. *Int J Cosmet Sci.* 2011; 33(5):443–9.
28. Flo A, Calpena AC, Halbaut L, Araya EI, Fernández F, Clares B. Melatonin Delivery: Transdermal and Transbuccal Evaluation in Different Vehicles. *Pharm Res.* 2016; 33(7):1615–27.

*Primljeno 27. lipnja 2018.*